Monolisa™ HBe Ag-Ab PLUS 72396

96 tests HBe Ag - 96 tests HBe Ab

TROUSSE DE DÉTECTION DES ANTIGÈNES HBe ET DES ANTICORPS ANTI-HBe PAR MÉTHODE IMMUNOENZYMATIQUE

IVD

Contrôle de qualité du fabriquant

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée par notre société.

BIO-RAD

SOMMAIRE

1. BUT DU TEST
2. INTÉRÊT CLINIQUE
3. PRINCIPE DU TEST
4. COMPOSITION DE LA TROUSSE
5. MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI
6. PRÉCAUTIONS
7. CONSIGNES D'HYGIÈNE ET DE SÉCURITÉ
8. RECONSTITUTION DES RÉACTIFS
9. CONSERVATION - VALIDITÉ
10. ÉCHANTILLONS
11. MODE OPÉRATOIRE
12. CALCULS ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS
13. VÉRIFICATION SPECTROPHOTOMÉTRIQUE DES DÉPÔTS DE RÉACTIFS
14. PERFORMANCES
15. BIBLIOGRAPHIE

1 - BUT DU TEST

Monolisa™ HBe Ag-Ab PLUS permet la détermination qualitative par technique immunoenzymatique de l'antigène e du virus de l'hépatite B (Ag HBe) et/ou des anticorps dirigés contre l'antigène e du virus de l'hépatite B (Anti-HBe) éventuellement présents dans le sérum ou le plasma humain).

2 - INTÉRÊT CLINIQUE

La présence de l'antigène HBe traduit généralement la multiplication virale active et signifie l'infectiosité du sujet. L'antigène HBe apparaît précocement au cours d'une hépatite virale de type B, et son maintien (supérieur à un mois) traduit un risque d'aggravation de l'hépatopathie.
L'apparition des anticorps contre l'antigène HBe témoigne d'une baisse de la réplication virale et représente généralement un pronostic clinique favorable).

3 - PRINCIPE DU TEST

a) Détection de l'antigène HBe

La détection de l'Ag HBe repose sur une technique immunoenzymatique du type "sandwich" en deux temps, utilisant un anticorps Anti-HBe humain et un couple d'anticorps monoclonaux Anti-HBe marqués (Acm1 et Acm2) d'origine murine reconnaissant des épitopes différents.
La phase solide est constituée par 12 barrettes de 8 cupules en polystyrène sensibilisées avec l'anticorps Anti-HBe humain.
Les deux anticorps monoclonaux sont couplés à la peroxydase.
Le dosage comprend les étapes réactionnelles suivantes :

1. Incubation des échantillons et des contrôles en présence du premier anticorps Anti-HBe humain fixé sur la phase solide.
2. Lavage, puis incubation des complexes insolubilisés avec le couple d'anticorps monoclonaux marqués à la peroxydase.
3. Elimination, par lavage, du conjugué resté libre, puis révélation de l'activité enzymatique liée à la phase solide par addition du substrat.
4. Arrêt de la révélation, puis lecture des densités optiques à 450/620 nm et interprétation des résultats.

b) Détection des anticorps anti-HBe

Pour la détection des anticorps anti-HBe, la trousse utilise la même phase solide que pour l'Anti-HBe. Le test est basé sur le principe de la compétition entre l'anticorps insolubilisé et l'anticorps présent dans l'échantillon vis-à-vis d'une quantité limitée d'antigène HBe, d'origine plasmatique, utilisé comme réactif de neutralisation. La révélation se fait ensuite à l'aide d'un autre mélange du couple d'anticorps monoclonaux (Acm1 et Acm2) marqués à la peroxydase.
Le test comprend les étapes réactionnelles suivantes :

1. Incubation des échantillons et des contrôles en présence du premier anticorps Anti-HBe humain immobilisé sur la phase solide et de l'antigène de neutralisation.
2. Lavage, puis incubation des complexes insolubilisés avec le couple d'anticorps monoclonaux marqués à la peroxydase.
3. Élimination, par lavage, du conjugué resté libre, puis révélation de l'activité enzymatique liée à la phase solide par addition du substrat.
4. Arrêt de la révélation, puis lecture des densités optiques à 450/620 nm et interprétation des résultats.

4 - COMPOSITION DE LA TROUSSE

Tous les réactifs sont destinés à l'usage du diagnostic «*in-vitro*»
Les réactifs sont fournis en quantité suffisante pour réaliser 2 x 96 déterminations en 1 à 12 manipulations indépendantes et selon les combinaisons suivantes :

- soit 96 déterminations d'Ag HBe et 96 déterminations d'Ac HBe
- soit 2 x 48 déterminations d'Ag HBe et 2 x 48 déterminations d'Anti-HBe simultanément.

ETIQUETAGE	NATURE DES RÉACTIFS	PRÉSENTATION
R1	**MICROPLAQUE :** 12 barrettes de 8 cupules sensibilisées avec des anticorps Anti-HBe humains provenant de sérum positif en Ag HBs, inactivé	2 plaques
R2	**SOLUTION DE LAVAGE CONCENTRÉE (20X)** Tampon Tris-NaCl pH 7,4 Conservateur : ProClin™ 300 (0,04 %)	1 flacon 235 ml
R3	**CONTRÔLE NÉGATIF** (COMMUN AUX TESTS Ag HBe/ANTI-HBe) Sérum humain négatif en anticorps anti-HIV1 et anti-HIV2, en antigène HBs et en anticorps anti HCV Conservateur : Azide de sodium à 0,1 %	1 flacon 8 ml
R4	**CONTRÔLE POSITIF TEST ANTI-HBe** Sérum humain contenant des anticorps anti-HBe et potentiellement positif en Ag HBs, négatif en anticorps anti-HIV1 et anti-HIV2 et en anticorps anti-HCV, inactivé Conservateur : Azide de sodium à 0,1%	1 flacon 1,5 ml
R5	**CONTRÔLE POSITIF TEST Ag HBe** Diluant synthétique contenant du plasma humain défibriné ou du sérum positif en Ag HBe et en Ag HBs, négatif en anticorps anti-HIV1, anti-HIV2 et en anticorps anti-HCV, inactivé Conservateur : Azide de sodium à 0,1 %	1 flacon 1,5 ml
R6	**ANTIGÈNE DE NEUTRALISATION** Diluant synthétique contenant du plasma humain défibriné ou du sérum positif en Ag HBe et en Ag HBs, négatif en anticorps anti-HIV1, anti-HIV2 et en anticorps anti-HCV, inactivé Conservateur : Azide de sodium à 0,1 %	1 flacon 8 ml
R7a	**CONJUGUÉ TEST ANTI- HBe, CONCENTRÉ 5X** 2 anticorps monoclonaux murins (Acm1 et Acm2)* Anti-HBe couplés à la peroxydase	1 flacon 3 ml
R7b	**CONJUGUÉ TEST AG HBe, CONCENTRÉ 5X** 2 anticorps monoclonaux murins (Acm1 et Acm2)* Anti-HBe couplés à la peroxydase	1 flacon 3 ml
R8	**TAMPON SUBSTRAT DE LA PEROXYDASE** Solution d'acide citrique et d'acétate de sodium pH 4.0 contenant 0.015% d'H_2O_2 et 4%de diméthylsulfoxyde (DMSO)	1 flacon 60 ml
R9	**CHROMOGÈNE** Solution colorée en rose contenant du tétraméthyl benzidine (TMB)	1 flacon 5 ml
R10	**SOLUTION D'ARRÊT** Solution d'acide sulfurique 1N	1 flacon 28 ml
	FLACON VIDE POUR LE R2 DILUÉ	1 flacon 25 ml

** Les ratios acm1/acm2 sont différents pour chacun des conjugués R7a et R7b. ne pas interchanger les deux conjugués.*

5 - MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Eau distillée ou complètement déminéralisée.
- Eau de javel et bicarbonate de soude.
- Papier absorbant.
- Gants à usage unique.
- Tubes polystyrène (12 x 75 mm) à usage unique.
- Pipettes automatiques ou semi-automatiques réglables ou fixes pouvant distribuer 50 µl, 100 µl, 200 µl et 1 ml
- Éprouvettes graduées de 10 ml, 50 ml, 100 ml, 1000 ml
- Agitateur type vortex
- Conteneur de déchets contaminés
- Système de lavage automatique, semi-automatique ou manuel pour microplaque*
- Bain marie, ou incubateur sec, pouvant être thermostaté à 37°C ± 1°C*
- Appareil de lecture pour microplaques, équipé de filtres de 450 et 620 nm*

(*) Nous consulter pour une information précise concernant les appareils validés par nos services techniques.

6 - PRÉCAUTIONS

La qualité des résultats dépend du respect des bonnes pratiques de laboratoire suivantes :

- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents au cours d'un même essai.

  REMARQUE : Il est possible d'utiliser d'autres lots de solution de lavage (R2, identifié 20X en vert sur l'étiquette), de tampon substrat (R8, identifié TMB buf. en bleu), de chromogène (R9, identifié TMB 11X. en violet) et de solution d'arrêt (R10, identifié 1N en rouge), que ceux fournis dans la trousse sous réserve d'utiliser un seul et même lot de ceux-ci au cours d'un même essai. Ces réactifs peuvent être utilisés avec d'autres produits de notre société. De plus, la solution de lavage (R2, identifié ***20X en vert*** *sur l'étiquette), peut être mélangée avec l'une des deux autres solutions de lavage inclues dans les différents kits réactifs Bio-Rad (R2, identifié 10X en bleu ou 10X en orange sur l'étiquette) correctement reconstituées, à condition qu'un seul mélange soit utilisé pour une même manipulation donnée. Contacter nos services techniques pour obtenir des informations détaillées.*
- Le nom du test ainsi qu'un numéro d'identification spécifique du test sont mentionnés sur le cadre de chaque microplaque. Ce numéro d'identification spécifique figure également sur chaque barrette.

  Monolisa™ HBe Ag-Ab PLUS : Numéro spécifique d'identification = 56.

  Cette identification doit être vérifiée avant chaque utilisation. Toute barrette dont le numéro de test est absent, ou différent de celui mentionné ci-dessus, ne doit pas être utilisée.
- Ne pas utiliser des réactifs dont la validité est expirée.
- Avant utilisation, attendre 30 minutes que les réactifs s'équilibrent à la température ambiante (18-30°) et une heure pour la solution de lavage diluée (R2).
- Reconstituer soigneusement les réactifs en évitant toute contamination.
- Ne pas réaliser le test en présence de vapeurs réactives (acides, alcalines, aldéhydes) ou de poussières qui pourraient altérer l'activité enzymatique du conjugué.
- Utiliser une verrerie parfaitement lavée et rincée à l'eau distillée ou de préférence du matériel à usage unique.
- Ne pas laisser la microplaque sécher entre la fin du lavage et la distribution des réactifs.
- Utiliser un cône de distribution neuf pour chaque sérum.
- Le lavage des cupules est une étape essentielle de la manipulation : respecter le nombre de cycles de lavages prescrits, et s'assurer que toutes les cupules sont complètement remplies, puis complètement vidées. Un mauvais lavage peut entraîner des résultats incorrects.
- Ne jamais utiliser le même récipient pour distribuer le conjugué et la solution de révélation.
- Vérifier l'exactitude et la bonne précision des pipettes et le bon fonctionnement des appareils utilisés.

- Ne pas changer le protocole opératoire.
- Contrôler la solution de révélation enzymatique avant la distribution. Elle doit être rose. Si elle est de couleur bleutée, la solution de révélation est altérée et ne doit pas être utilisée pour le test.

7 - CONSIGNES D'HYGIÈNE ET DE SÉCURITÉ

Tous les réactifs de la trousse sont destinés à l'usage du diagnostic "*in vitro*".

- Porter des gants à usage unique lors de la manipulation des réactifs et des échantillons et se laver les mains soigneusement après leur manipulation.
- Ne pas "pipeter à la bouche".
- Le matériel d'origine humaine utilisé dans la préparation du réactif R3 (contrôle négatif) a été contrôlé et trouvé non-réactif en antigène de surface du virus de l'hépatite B (Ag HBs), en anticorps dirigés contre les virus de l'immunodéficience humaine (anti-HIV-1 et anti-HIV-2) et en anticorps dirigés contre le virus de l'hépatite C (anti-HCV).
- Le matériel d'origine humaine utilisé pour la préparation du réactif R1 (microplaque sensibilisée) a été contrôlé et trouvé non-réactif en anticorps dirigés contre les virus de l'immunodéficience humaine (anti-HIV-1 et anti-HIV-2) et en anticorps dirigés contre le virus de l'hépatite C (VHC). Il est réactif en antigène de surface du virus de l'hépatite B (Ag HBs). Il a été inactivé photochimiquement.
- Le matériel d'origine humaine utilisé pour la préparation des réactifs R4 (contrôle positif test Anti-HBe), R5 (contrôle positif test Ag HBe) et R6 (antigène de neutralisation) a été contrôlé et trouvé non-réactif en anticorps dirigés contre les virus de l'immunodéficience humaine (anti-HIV-1 et anti-HIV-2) et en anticorps anti-HCV. Les réactifs R5 et R6 sont positifs en antigène de surface du virus de l'hépatite B (Ag HBs), le réactif R4 est potentiellement positif en antigène de surface du virus de l'hépatite B (Ag HBs). Ils ont été inactivés photochimiquement.
- Du fait qu'aucune méthode ne peut garantir de façon absolue l'absence des virus VIH, VHB, VHC ou d'autres agents infectieux, considérer les réactifs d'origine humaine, ainsi que les échantillons de patients, comme potentiellement infectieux et les manipuler avec les précautions d'usage.
- Considérer le matériel directement en contact avec les échantillons et les réactifs d'origine humaine, ainsi que les solutions de lavage, comme des produits contaminés.
- Eviter les éclaboussures d'échantillons ou de solutions les contenant.
- Les surfaces souillées seront nettoyées par de l'eau de javel diluée à 10 %. Si le liquide contaminant est un acide, les surfaces souillées seront neutralisées au préalable avec du bicarbonate de soude, puis nettoyées à l'aide de l'eau de javel et séchées avec du papier absorbant. Le matériel utilisé pour le nettoyage devra être jeté dans un conteneur spécial pour déchets contaminés.
- Les échantillons, les réactifs d'origine humaine ainsi que le matériel et les produits contaminés seront éliminés après décontamination :
  - soit par trempage dans de l'eau de javel à la concentration finale de 5 % d'hypochlorite de sodium (1 volume d'eau de javel pour 10 volumes de liquide contaminé ou d'eau) pendant 30 minutes,
  - soit par autoclavage à 121°C pendant 2 heures minimum. L'autoclave est la meilleure méthode pour inactiver les virus VIH et VHB.

    ATTENTION : NE PAS INTRODUIRE DANS L'AUTOCLAVE DES SOLUTIONS CONTENANT DE L'HYPOCHLORITE DE SODIUM.
- Ne pas omettre de neutraliser et/ou d'autoclaver les solutions ou effluents de lavage ou tout liquide contenant des échantillons biologiques avant de les jeter dans l'évier.
- La fiche de données de sécurité est disponible sur demande.
- La manipulation et l'élimination des produits chimiques doivent être effectuées selon les bonnes pratiques de laboratoire.
- Eviter tout contact du tampon substrat, du chromogène et de la solution d'arrêt avec la peau et les muqueuses (toxicité, irritation ou brûlure).
- Un certain nombre de réactifs contiennent de l'azoture de sodium.
  Ce composé peut former avec des canalisations de plomb ou de cuivre des azotures hautement explosifs. Afin d'éviter l'accumulation de tels azotures dans les canalisations, lors de l'élimination de ces réactifs dans un évier, les neutraliser et laver l'évier à grande eau.

• Certains réactifs contiennent du ProClin™ 300 (0.04%, 0.1 % et/ou 0,5%)

Xi Irritant
R43 : peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau
S28-37 : Après contact avec la peau, se laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et du savon. Porter des gants appropriés.

8 - RECONSTITUTION DES RÉACTIFS

Note : avant utilisation, laisser les réactifs s'équilibrer à température ambiante (18-30°C)

Microplaque (R1)

Chaque support cadre contenant 12 barrettes est conditionné en sachet aluminium scellé. Couper le sachet à l'aide de ciseaux ou scalpel 0,5 à 1 cm au-dessus de la soudure. Ouvrir le sachet et sortir le cadre. Replacer dans le sachet les barrettes inutilisées. Refermer le sachet soigneusement et le replacer à +2-8°C.

Solution de lavage concentrée (20X) : R2

Diluer 20 fois la solution dans l'eau distillée. On obtient ainsi la solution de lavage prête à l'emploi. 75 ml de solution prête à l'emploi sont nécessaires pour une barrette. Homogénéiser.

CONJUGUÉS

Conjugué test Anti -HBe (R7a)

Diluer au 1/5è la solution R7a dans la solution R2 préalablement diluée, sachant qu'il faut prévoir selon le nombre de barrettes utilisées :

Nombre de barrettes utilisées	Volume de solution R7a (ml)	qsp avec R2 dilué (ml)
1	0,2	1
2	0,4	2
3	0,6	3
4	0,8	4
5	1	5
6	1,2	6
7	1,4	7
8	1,6	8
9	1,8	9
10	2	10
11	2,2	11
12	2,4	12

Homogénéiser.

Le conjugué peut aussi être utilisé sans prédilution préalable en déposant dans l'ordre 80 µl de R2 **dilué** prêt à l'emploi puis 20 µl de conjugué 5X. Agiter.

Conjugué test Ag HBe (R7b)

Utiliser le même protocole que pour le conjugué R7a.

Solution de révélation enzymatique (R8 + R9)

Diluer le réactif R9 dans le réactif R8 en respectant la dilution du 1/11éme (1 volume de R9 dans 10 volumes de R8). Homogénéiser.

10 ml sont nécessaires et suffisants pour 1 à 10 barrettes.

9 - CONSERVATION - VALIDITÉ

La trousse doit être gardée à +2-8°C. Chaque élément de la trousse conservé à +2-8°C peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret (sauf indication spécifique)

R1 : Après ouverture du sachet sous vide, les barrettes conservées à +2-8°C dans leur sachet d'origine, refermé avec soin, sont stables pendant 1 mois.

R2 : La solution de lavage diluée peut être conservée à +2-30°C pendant 2 semaines. La solution de lavage concentrée (R2) peut être conservée à +2- 30°C.

R7a : Le conjugué dilué du test Anti-HBe peut être conservé 8 heures à température ambiante (18-30°C). Le conjugué dilué doit être conservé à l'abri de la lumière, à la température ambiante (18-30°C).

R7b : Le conjugué dilué du test Ag HBe peut être conservé 8 heures à température ambiante (18-30°C). Le conjugué dilué doit être conservé à l'abri de la lumière, à la température ambiante (18-30°C).

R8 + R9 : Après reconstitution, les réactifs conservés à l'obscurité sont utilisables pendant 6 heures à la température ambiante (18-30°C).

10 - ÉCHANTILLONS

Prélever un échantillon de sang selon les pratiques en usage.

Les tests sont effectués sur des échantillons non dilués de sérum ou de plasma (collectés avec des anticoagulants comme l'EDTA, l'héparine, le citrate).

Une hémolyse très prononcée peut affecter les performances du test. Les échantillons présentant des agrégats doivent être clarifiés par centrifugation avant le test. Les particules ou agrégats de fibrine en suspension peuvent donner des résultats faussement positifs.

Les échantillons seront conservés à +2-8°C si le dépistage est effectué dans les 7 jours ou peuvent être conservés congelés à -20°C pour plusieurs mois.

Eviter les congélations/décongélations répétées. Les échantillons ayant été congelés et décongelés plus de 3 fois ne doivent pas être utilisés.

Si les échantillons doivent voyager, les emballer selon la réglementation en usage pour le transport des agents étiologiques et les transporter préférablement congelés.

NE PAS UTILISER DE SÉRUMS CONTAMINÉS, OU HYPERLIPÉMIQUES OU HYPERHÉMOLYSES OU HYPERPROTÉIQUES

REMARQUE : Aucune interférence n'a été mise en évidence sur des échantillons contenant jusqu'à 100 mg/l de bilirubine, ainsi que sur des échantillons lipémiques contenant jusqu'à 36 g/l de trioléine et sur des échantillons hémolysés contenant jusqu'à 2.5 mg/ml d'hémoglobine.

Une diminution de ratios a été observée sur des échantillons négatifs surchargés avec 45 mg/ml d'albumine mimant une hyperproteinémie.

11 - MODE OPÉRATOIRE

Les tests Ag HBe et Anti-HBe peuvent s'effectuer sur la même plaque. Dans ce cas, nous conseillions :

- Test Anti-HBe : Colonnes 1 à 6
- Test Ag HBe : Colonnes 7 à 12

Pour les lavages, le volume minimum et de 0.55 ml par lavage et par puits.

a) Protocole du test Anti-HBe

1. Préparer la solution de lavage.
2. Sortir de l'emballage protecteur le cadre support, et le nombre de barrettes nécessaires. Remettre les barrettes non utilisées dans l'emballage et refermer ce dernier.
3. Distribuer dans les cupules successivement (plan de plaque suggéré) :
   - A1, B1, C1 : 100 µl de contrôle négatif (R3)
   - D1 : 100 µl de contrôle positif (R4)
   - E1, F1, G1 : 100 µl d'échantillon inconnu.

   En fonction du système utilisé, il est possible de modifier la position ou l'ordre de distribution des contrôles.

   NB : Visuellement, une nette différence de coloration peut être observée entre une cupule vide transparente et une cupule contenant un échantillon (jaune pâle). Il est possible de vérifier par lecture photométrique à 490nm la présence des échantillons dans les cupules. (cf. chapitre 13 : VÉRIFICATION SPECTROPHOTOMÉTRIQUE DES DÉPÔTS DE RÉACTIFS).
4. Ajouter rapidement 50 µl d'antigène neutralisant (R6) par cupule. Homogénéiser.

   Recouvrir d'un film adhésif, laisser incuber 3 heures ± 10 minutes à 37°C ± 1°C.

   NB : Visuellement, une coloration rose peut être observée après addition de l'antigène neutralisant R6. Il est possible de vérifier par lecture photométrique à 490 nm la présence de l'antigène neutralisant R6 dans les cupules. (cf. chapitre 13 : VÉRIFICATION SPECTROPHOTOMÉTRIQUE DES DÉPÔTS DE RÉACTIFS).
5. Préparer la solution de conjugué R7a avant la fin de la première incubation.
6. Retirer le film adhésif, vider par aspiration le contenu de chaque cupule dans le conteneur de déchets puis laver quatre fois.

7. Distribuer rapidement 100 µl de la solution de conjugué R7a prédilué (cf. chapitre 8 : RECONSTITUTION DES RÉACTIFS) par cupule **ou**, le conjugué pouvant aussi être utilisé sans prédilution préalable, déposer dans l'ordre 80µl de R2 dilué puis 20µl de conjugué R7a par cupule. Homogénéiser.
   Couvrir d'un film adhésif, et laisser incuber 30 minutes (minimum 25 minutes, maximum 40 minutes) à 37°C ± 1°C. Retirer le film adhésif, vider par aspiration le contenu de chaque cupule dans le conteneur de déchets, puis laver cinq fois.
   NB : Visuellement, une coloration violette peut être observée après addition du conjugué R7a. Il est possible de vérifier par lecture photométrique à 620 nm la présence du conjugué R7a dans les cupules. (cf. chapitre 13 : VÉRIFICATION SPECTROPHOTO-MÉTRIQUE DES DÉPÔTS DE RÉACTIFS).
8. Préparer la solution de révélation enzymatique (R8 + R9).
9. Distribuer rapidement 80 µl de la solution de révélation par cupule et placer la plaque 30 minutes ± 5 minutes à l'obscurité et à température ambiante (+18-30°C).
   N.B.: La distribution de la solution de révélation, qui est colorée en rose, peut être contrôlée visuellement à ce stade de la manipulation : Il y a une différence de coloration significative entre une cupule vide et une cupule contenant la solution de révélation rosée. (se reporter au paragraphe 13 pour la vérification automatique VÉRIFICATION SPECTROPHOTOMÉTRIQUE DU DÉPÔT DES ÉCHANTILLONS ET DES RÉACTIFS).
10. Ajouter rapidement 100 µl de la solution d'arrêt (R10) dans chaque cupule.
    N.B.: La distribution de la solution d'arrêt, qui est incolore, peut être contrôlée visuellement à ce stade de la manipulation. La coloration du substrat, rosée (pour les échantillons négatifs) ou bleue (pour les échantillons positifs), disparaît des cupules qui deviennent incolores (pour les échantillons négatifs) ou jaunes (pour les échantillons positifs) après addition de la solution d'arrêt.
11. **Attendre 4mn avant la lecture.**
12. Essuyer soigneusement le dessous de la plaque, et lire la densité optique à 450/620 nm, dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction.

b) Protocole du test Ag HBe

1. Préparer la solution de lavage.
2. Sortir de l'emballage protecteur, le cadre support, et le nombre de barrettes nécessaires. Remettre les barrettes non utilisées dans l'emballage et refermer ce dernier.
3. Distribuer dans les cupules, successivement (plan de plaque suggéré) :
   - A1, B1, C1 : 100 µl de contrôle négatif (R3)
   - D1 : 100 µl de contrôle positif (R5)
   - E1, F1, G1 : 100 µl d'échantillon inconnu

   En fonction du système utilisé, il est possible de modifier la position ou l'ordre de distribution des contrôles.
   NB : Visuellement, une nette différence de coloration peut être observée entre une cupule vide transparente et une cupule contenant un échantillon (jaune pâle). Il est possible de vérifier par lecture photométrique à 490nm la présence des échantillons dans les cupules. (cf. chapitre 13 : VÉRIFICATION SPECTROPHOTOMÉTRIQUE DES DÉPÔTS DE RÉACTIFS).
4. Recouvrir d'un film adhésif, laisser incuber 3 heures ± 10 minutes à 37°C ± 1°C.
5. Préparer la solution de conjugué R7b avant la fin de la première incubation.
6. Retirer le film adhésif, vider par aspiration le contenu de chaque cupule dans le conteneur de déchets, puis laver quatre fois.
7. Distribuer rapidement 100 µl de la solution de conjugué R7b prédilué (cf. chapitre 8 : RECONSTITUTION DES RÉACTIFS) par cupule ou, le conjugué pouvant aussi être utilisé sans prédilution préalable, déposer dans l'ordre 80µl de R2 dilué puis 20µl de conjugué R7b par cupule. Homogénéiser.
   Couvrir d'un film adhésif et laisser incuber 30 minutes (minimum 25 minutes, maximum 40 minutes) à 37°C ± 1°C.
   NB : Visuellement, une coloration bleue turquoise peut être observée après addition du conjugué R7b. Il est possible de vérifier par lecture photométrique à 620nm la présence du conjugué R7b dans les cupules. (cf. chapitre 13 : VÉRIFICATION SPECTROPHOTOMÉTRIQUE DES DÉPÔTS DE RÉACTIFS).

8. Retirer le film, vider le contenu de chaque cupule, dans le conteneur de déchets puis laver cinq fois.
9. Préparer la solution de révélation enzymatique (R8 + R9).
10. Distribuer rapidement 80 µl de la solution de révélation par cupule et placer la plaque 30 minutes ± 5 minutes à l'obscurité à température ambiante (+18 - 30°C).

    N.B.: La distribution de la solution de révélation, qui est colorée en rose, peut être contrôlée visuellement à ce stade de la manipulation : Il y a une différence de coloration significative entre une cupule vide et une cupule contenant la solution de révélation rosée. (se reporter au paragraphe 13 pour la vérification automatique VÉRIFICATION SPECTROPHOTOMÉTRIQUE DU DÉPÔT DES ÉCHANTILLONS ET DES RÉACTIFS)
11. Ajouter rapidement 100 µl de la solution d'arrêt (R10) dans chaque cupule.

    N.B.: La distribution de la solution d'arrêt, qui est incolore, peut être contrôlée visuellement à ce stade de la manipulation. La coloration du substrat, rosée (pour les échantillons négatifs) ou bleue (pour les échantillons positifs), disparaît des cupules qui deviennent incolores (pour les échantillons négatifs) ou jaunes (pour les échantillons positifs) après addition de la solution d'arrêt.
12. **Attendre 4mn avant la lecture.**
13. Essuyer soigneusement le dessous de la plaque, et lire la densité optique à 450/620 nm, dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction.

c) Protocole des tests Anti-HBe et Ag HBe sur la même plaque

Les protocoles sont identiques à ceux décrits précédemment. Seule la disposition est modifiée sur la plaque.

- Test Anti-HBe : Colonnes 1 à 6
- Test Ag HBe : Colonnes 7 à 12

12 - CALCULS ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

a) Test Anti-HBe

1. Calculer la densité optique moyenne des contrôles négatifs : DO R3

Exemple :	**Contrôle Négatif R3**	**DO**
	1	1.607
	2	1.410
	3	1.552
	Somme =	**4.569**

Moyenne DO R3 = 4.569 / 3 = 1.523

Il est possible d'éliminer une valeur d'un contrôle négatif, lorsque sa DO s'écarte de plus de 25% de la moyenne.

Refaire alors le calcul de la moyenne sur les deux autres valeurs.

2. Calcul de la valeur seuil

Pour chaque plaque, la valeur seuil est égale à :

Valeur seuil = VS = $\overline{\text{DO R3}}$ x 0.4

Exemple :

DO R3 = 1.523

VS = 1.523 x 0.4 = 0.609

3. Validation du test anti-HBe

DO R3 > 0,900

DO R4 < 0.150

4. Calcul des ratios

Pour chaque échantillon calculer le ratio :

Ratio= Do échantillon/VS

5. Interprétation des résultats

Tous les échantillons dont le ratio est inférieur ou égal à 0,9 sont considérés comme positifs (ratio ≤ 0,9).

Tous les échantillons dont le ratio est supérieur à 1.1 sont considérés comme négatifs (ratio > 1,1).

Pour les ratios compris entre 0,9 et 1,1 (0,9 < ratio ≤ 1.1), il est recommandé de refaire une recherche d'anti HBe sur un prélèvement ultérieur.

Il est conseillé de re-tester les échantillons positifs en double. Si après répétition de l'essai, au moins une valeur des 2 doublets est positive, l'échantillon est considéré comme positif.

b) Test Ag HBe

1. Calculer la densité optique moyenne des contrôles négatifs : DO R3

Exemple :	**Contrôle Négatif R3**	**DO**
	1	0.023
	2	0.022
	3	0.026
	Somme =	**0.071**

Moyenne DO R3 = 0.071 / 3 = 0.024

Il est possible d'éliminer une valeur d'un contrôle négatif lorsque sa DO s'écarte de plus de 25 % de la moyenne.

Refaire alors le calcul de la moyenne sur les deux autres valeurs.

2. Calcul de la valeur seuil

Pour chaque plaque, la valeur seuil est égale à :

Valeur seuil = VS = $\overline{DO\ R3}$ + 0,025

Exemple :

DO R3 = 0.024

Incrément = 0,025

VS = 0.024+ 0,025 = 0.049

3. Validation du test Ag HBe

DO R3 < 0.060

DO R5 > 0,800

4. Calcul des ratios

Pour chaque échantillon, calculer le ratio :

$$\text{Ratio} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{VS}}$$

5. Interprétation des résultats

Tous les échantillons dont le ratio est inférieur à 1 sont considérés comme négatifs (ratio < 1).

Tous les échantillons dont le ratio est supérieur ou égal à 1 sont considérés comme positifs (ratio ≥ 1).

Il est conseillé de re-tester les échantillons positifs en double. Si après répétition de l'essai, au moins une valeur des 2 doublets est positive, l'échantillon est considéré comme positif.

13 - VÉRIFICATION SPECTROPHOTOMÉTRIQUE DES DÉPÔTS DE RÉACTIFS TEST ANTI-HBe

VÉRIFICATION DU DÉPÔT DES ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

La présence des échantillons et des contrôles dans les cupules peut être vérifiée par lecture photométrique à 490nm.

La DO doit être supérieure à **0.050**.

Visuellement, une nette différence de coloration peut être observée entre une cupule vide transparente et celle contenant un échantillon(jaune pâle).

VÉRIFICATION DU DÉPÔT D'Ag DE NEUTRALISATION (R6)

La présence de R6 dans les cupules peut être vérifiée par lecture photométrique à 490nm avec un calcul de delta de DO.

Delta de DO = (DO à 490nm de la cupule en présence de l'échantillon (ou du contrôle) et de l'antigène neutralisant R6) – (DO à 490 nm de la cupule en présence uniquement de l'échantillon (ou du contrôle)).

La différence de DO doit être supérieure à **0.150**

Visuellement, une coloration rose peut être observée après addition du R6.

VÉRIFICATION DU DÉPÔT DU CONJUGUÉ (R7a)

La présence de conjugué peut être vérifiée par lecture photométrique à 620nm.

La DO doit être comprise entre 0.070 et 0.200 **(0.070 ≤ DO ≤ 0.200)**

Visuellement, une coloration violette peut être observée après addition de R7a.

VÉRIFICATION DU DÉPÔT DE LA SOLUTION DE RÉVÉLATION (R8+R9)

La présence de la solution de révélation peut être vérifiée par lecture photométrique à 490nm.

La DO doit être supérieure à **0.100**.

Visuellement, une coloration rose peut être observée après addition de la solution de révélation.

TEST HBe Ag

VÉRIFICATION DU DÉPÔT DES ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

La présence des échantillons et des contrôles dans les cupules peut être vérifiée par lecture photométrique à 490nm. La DO doit être supérieure à 0.050

Visuellement, une nette différence de coloration peut être observée entre une cupule vide transparente et celle contenant un échantillon (jaune pâle).

VÉRIFICATION DU DÉPÔT DU CONJUGUÉ (R7b)

La présence de conjugué peut être vérifiée par lecture photométrique à 620nm.

La DO doit être supérieure à 0.210.

Visuellement, une coloration bleue turquoise peut être observée après addition de R7b.

VÉRIFICATION DU DÉPÔT DE LA SOLUTION DE RÉVÉLATION (R8+R9)

La présence de la solution de révélation peut être vérifiée par lecture photométrique à 490nm.

La DO doit être supérieure à 0.100.

Visuellement, une coloration rose peut être observée après addition de la solution de révélation.

14 - PERFORMANCES

Les performances du test Monolisa™ HBe Ag/Ab PLUS résumées ci dessous ont été évaluées sur 2 sites utilisant des échantillons de donneurs de sang, de patients hospitalisés et de panels commerciaux.

De plus la sensibilité analytique a été évaluée à l'aide du standard PEI.

HBe Ag

Spécificité

La spécificité étudiée sur une population de 200 donneurs de sang a été trouvée à 100% [98.51 - 100%], (IC95).

De plus la spécificité a également été évaluée sur des échantillons de patients hospitalisés et trouvée à 100% [99.28 – 100%] IC 95 (416/416).

195 échantillons caractérisés par différentes pathologies non liées à l'Hépatite B (infections virales et bactériennes, échantillons positifs en facteurs rhumatoïdes, auto-anticorps, ou anti souris, échantillons de myélomes, de femmes enceintes) ont été testés.

La spécificité sur cette population était de 99.49% [97.18- 99.99%] (IC 95) soit 194/195 échantillons trouvés négatifs.

1 échantillon de myélome a été trouvé discordant.

Sensibilité analytique

La limite de sensibilité évaluée à l'aide du Standard PEI a été trouvée à 0.64 UI/ml [0.49 - 0.84] (IC 95%).

Sensibilité clinique

La sensibilité a été testée sur 203 échantillons provenant de patients avec hépatites chroniques, de panels commerciaux et de séroconversions. La sensibilité sur l'ensemble de ces échantillons est de 99.51% [97.29 - 99.99%] (IC95) soit 202/203 échantillons.

Précision

La précision du test Monolisa™ HBe Ag/Ab Plus (HBe Ag) a été déterminée à l'aide de 4 échantillons : 1 négatif, 1 positif faible, 1 positif moyen, 1 positif fort en HBe Ag.

L'étude intra essai a été étudiée en testant 30 fois chaque échantillon au cours du même essai.

L'étude inter essai a été réalisée en testant chaque échantillon en duplicat pendant 20 jours à raison de 2 essais par jour.

Les résultats sont les suivants :

Tableau 1 : Intra essai

n = 30	échantillon 1	échantillon 2	échantillon 3	échantillon 4
Moyenne des ratios	0,356	5,29	27,24	45,56
Ecart type	0,05	0,35	0,63	2,88
CV (%)	14,20	6,53	2,31	6,33

Tableau 2 : Inter essai

n = 80	échantillon 1	échantillon 2	échantillon 3	échantillon 4
Moyenne des ratios	0,51	8,19	27,33	46,35
Ecart type	0,12	1,17	3,26	4,98
CV (%)	23,86	14,27	11,92	10,74

HBe Ac

Spécificité

La spécificité étudiée sur une population de 200 donneurs de sang a été trouvée à 100% [98.51 – 100%], (IC95).

De plus la spécificité a également été évaluée sur 206 échantillons de patients hospitalisés et trouvée à 98.54% [95.80 – 99.70%] IC 95 (203/206).

198 échantillons caractérisés par différentes pathologies non liées à l'Hépatite B (infections virales et bactériennes, échantillons positifs en facteurs rhumatoïdes, auto-anticorps, ou anti souris, échantillons de myélomes , de femmes enceintes) ont été testés.

3 échantillons ont été trouvés positifs (2 échantillons HCV et 1 échantillon Facteur rhumatoïde).

La spécificité sur cette population était de 98.48% [95.64- 99.69%] (IC 95) soit 195/198 échantillons trouvés négatifs.

Ces échantillons ont été restestés; l'échantillon facteur rhumatoïde a été retrouvé positif; les 2 échantillons HCV ont été retrouvés soit négatif soit douteux .

Sensibilité clinique

La sensibilité a été testée sur 220 échantillons provenant de patients avec hépatites chroniques et de panels commerciaux. La sensibilité sur ces échantillons est de 98.64 % [96.07 - 99.72%] (IC95) soit 217/220 échantillons.

Précision

La précision de Monolisa™ HBe Ag/Ab Plus (HBe Ac) a été determinée à l'aide de 4 échantillons : 1 négatif, 1 positif faible, 1 positif moyen, 1 positif fort en HBe Ac.

L'étude intra essai a été étudiée en testant 30 fois chaque échantillon au cours du même essai.

L'étude inter essai a été réalisée en testant chaque échantillon en duplicate pendant 20 jours à raison de 2 essais par jour.

Les résultats sont les suivants :

Tableau 1 : Intra essai

n = 30	échantillon 1	échantillon 2	échantillon 3	échantillon 4
Moyenne des ratios	3,15	0,69	0,42	0,03
Ecart type	0,05	0,04	0,04	0,00
CV (%)	1,7%	5,7%	10,5%	6,6%

Tableau 2 : Inter essai

n = 80	échantillon 1	échantillon 2	échantillon 3	échantillon 4
Moyenne des ratios	2,39	0,81	0,59	0,03
Ecart type	0,23	0,077	0,09	0,01
CV (%)	9,6%	9,5%	14,5%	39,3%

15 - BIBLIOGRAPHIE

1-MIYAKAWA Y.; MAYUMI M.; (1985)

Hepatitis Be antigen and antibody (HBe Ag/Anti-HBe) in Hepatitis B. Academic Press., chap. 4: 47-76

2-KANNO A.; OHORI H., MATSUDA K.; NAKAYAMA H.; MIYAZAKI Y.; ISHIIM.; SUZUKI H.; OHTSUKI M.; GOTO Y. (1987)

Virological significance of HBe Ag subtypes (HBe Ag/1 and HBe Ag/2) in patients with type B hepatitis. Hepatology; 7 (1) 15-19

3-BRECHOT C.; (1987)

Les marqueurs et la prévention des infections par le virus de l'hépatite B en 1987. Encyclopédie Médicochirurgicale; Instantanés Médicaux, 4; 9-12

4-THIERS V.; BOUCHARDEAU F.; COUROUCE A.M.; TIOLLAIS P.; BRECHOT C., (1986)

L'ADN du virus de l'hépatite B comme marqueur de multiplication virale: comparaison avec l'antigène HBe et l'anticorps anti Hbe. La Presse Médicale: 15: 1219-1222

5-LAROUZE B., PENALBA C., DAZZA M.C. (1983)

Signification des marqueurs sériques du virus de l'hépatite B. Biologiste et praticien; 56; 13-22

6-ALDERSHVILE J., FROSNER G.G.; NIELSEN J.O.; HARDT F. DEINHARTD F.; SKINHOJ P., (1980)

Hepatitis Be antigen and antibody measured by radioimmuno-assay in acute hepatitis B surface antigen positive hepatitis. J. Infect. dis.: 141 (3), 293-297

7-TAKAHASHI K.; IMAI M., TSUDA F., TAKAHASHI T., MIYAKAWA Y. MAYUMI M. (1976)

Association of Dane particles with e antigen in the serum of asymptomatic carriers of hepatitis B surface antigen. J. of Immunol. 117 (1); 102 – 105

(GB) - CE marking (European directive 98/79/CE on *in vitro* diagnostic medical devices)
(FR) - Marquage CE (Directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*)
(ES) - Marcado CE (Directiva europea 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*)
(IT) - Marchiatura CE (Direttiva europea 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro*)
(DE) - CE Konformitätskennzeichnung (Europäische Richtlinie 98/79/EG über *In-vitro*-Diagnostika)
(PT) - Marcação CE (Directiva europeia 98/79/CE relativa aos dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*)
(SE) - CE-märkning (Europeiskt direktiv 98/79/EG om medicintekniska produkter för *in vitro*-diagnostik)
(DK) - CE-mærkningen (Europa direktiv 98/79/EF om medicinsk udstyr til *in vitro*-diagnostik)
(GR) - Χαρακτηρισμος CE (ευρωπαικη οδηγια 98/79/CE περι *in vitro* διαγνωστικες ιατρικες συσκευες)
(PL) - CE oznaczenie (Dyrektywa unijna 98/79/CE dotycząca produktów medycznych do badań *in vitro*)
(LT) - CE ženklas (Europos sąjungos direktyva 98/79/CE dėl *in vitro* diagnostikos medicinos prietaisų)
(HU) - CE jelzés (98/79/CE Európai Irányelv az *in vitro* orvosi diagnosztikai eszközökről)
(EE) - CE märgistus (Euroopa direktiiv 98/79/CE *in vitro* diagnostikameditsiiniseadmete kohta)
(SK) - CE označenie o zhode (Európska direktíva 98/79/CE pre *in vitro* diagnostické zdravotnícke postupy)
(CZ) - CE značka (Evropská direktiva 98/79/CE o diagnostických zdravotnických prostředcích *in vitro*)
(NO) - CE-merking (EU-direktiv 98/79/CE om medisinsk utstyr til *in vitro*-diagnostikk)
(RO) - Marca CE (Directiva europeana 98/79/CE pentru dispozitive medicale de diagnostic *in vitro*)
(BG) - CE маркировка (Европейска директива 98/79/CE за *ин витро* диагностичните медицински изделия)

IVD

(GB) - For *in vitro* diagnostic use
(FR) - Pour diagnostic *in vitro*
(ES) - Para diagnóstico *in vitro*
(IT) - Per uso diagnostico *in vitro*
(DE) - *In-vitro*-Diagnostikum
(PT) - Para uso em diagnóstico *in vitro*
(SE) - *In vitro*-diagnostik
(DK) - *In vitro* diagnose
(GR) - Για *in vitro* διαγνωστικη χρηση
(PL) - Do stosowania *in vitro*
(LT) - *in vitro* diagnostikai
(HU) - Csak *in vitro* diagnosztikai alkalmazásra
(EE) - *In vitro* diagnostiliseks kasutamiseks
(SK) - Na diagnostiku *in vitro*
(CZ) - Pro diagnostiku *in vitro*
(NO) - Til *in vitro*-diagnostikk
(RO) - Pentru diagnostic *in vitro*
(BG) - За *ин витро* диагностика

REF

(GB) - Catalogue number
(FR) - Référence catalogue
(ES) - Número de catálogo
(IT) - Numero di catalogo
(DE) - Bestellnummer
(PT) - Número de catálogo
(SE) - Katalognummer
(DK) - Katalognummer
(GR) - Αριθμος καταλογου
(PL) - Numer katalogu
(LT) - Katalogo numeris
(HU) - Cikkszám
(EE) - Katalooginumber
(SK) - Katalógové číslo
(CZ) - Katalogové číslo
(NO) - Katalognummer
(RO) - Număr de catalog
(BG) - Каталожен номер

(GB) - Manufacturer
(FR) - Fabricant
(ES) - Fabricante
(IT) - Produttore
(DE) - Hersteller
(PT) - Fabricante
(SE) - Tillverkad av
(DK) - Fremstillet af
(GR) - Κατασκευαστης
(PL) - Producent
(LT) - Gamintojas
(HU) - Gyártó
(EE) - Tootja
(SK) - Výrobca
(CZ) - Výrobce
(NO) - Produsent
(RO) - Producător
(BG) - Производител

EC REP

(GB) - Authorised Representative
(FR) - Représentant agréé
(ES) - Representante autorizado
(IT) - Distributore autorizzato
(DE) - Bevollmächtigter
(PT) - Representante Autorizado
(SE) - Auktoriserad representant
(DK) - Autoriseret repræsentant
(GR) - Εξουσιοδοτημενος αντιπροσωπος
(PL) - Upoważniony Przedstawiciel
(LT) - Įgaliotasis atstovas
(HU) - Meghatalmazott Képviselő
(EE) - Volitatud esindaja
(SK) - Autorizovaný zástupca
(CZ) - Zplnomocněný zástupce
(NO) - Autorisert representant
(RO) - Reprezentant autorizat
(BG) - Упълномощен представител

LOT

(GB) - Batch code
(FR) - Code du lot
(ES) - Código de lote
(IT) - Codice del lotto
(DE) - Chargen-Bezeichnung
(PT) - Código do lote
(SE) - Batchnr
(DK) - Batchkoden
(GR) - Κωδικας παρτιδας
(PL) - Numer serii
(LT) - Serijos numeris
(HU) - Gyártási szám
(EE) - Partii kood
(SK) - Číslo šarže
(CZ) - Číslo šarže
(NO) - Partikode
(RO) - Număr de lot
(BG) - Партиден номер

(GB) - Expiry date YYYY/MM/DD
(FR) - Date de peremption AAAA/MM/JJ
(ES) - Estable hasta AAAA/MM/DD
(IT) - Da utilizzare prima del AAAA/MM/GG
(DE) - Verwendbar bis JJJJ/MM/TT
(PT) - Data de expiração AAAA/MM/DD
(SE) - Utgångsdatum ÅÅÅÅ/MM/DD
(DK) - Anvendes før ÅÅÅÅ/MM/DD
(GR) - Ημερομηνια ληξης YYYY/MM/DD
(PL) - Data ważności YYYY/MM/DD
(LT) - Galioja iki YYYY/MM/DD
(HU) - Szavatossági idő ÉÉÉÉ/HH/NN
(EE) - Aegumistähtaeg AAAA/KK/PP
(SK) - Použiteľné do RRRR/MM/DD
(CZ) - Datum exspirace RRRR/MM/DD
(NO) - Utløpsdato ÅÅÅÅ/MM/DD
(RO) - Data expirarii AAAA/LL/ZZ
(BG) - Срок на годност година/месец/ден

(GB) - Storage temperature limitation
(FR) - Limites de températures de stockage
(ES) - Temperatura límite
(IT) - Limiti di temperatura di conservazione
(DE) - Lagertemperatur
(PT) - Limites de temperatura de armazenamento
(SE) - Temperaturbegränsning
(DK) - Temperaturbegrænsning
(GR) - Περιορισμος θερμοκρασιας αποθηκευσης
(PL) - Temperatura przechowywania
(LT) - Saugojimo temperatūriniai apribojimai
(HU) - Tárolási hőmérsékleti határok
(EE) - Piirangud säilitustemperatuurile
(SK) - Skladovacia teplota od do
(CZ) - Teplotní rozmezí od do
(NO) - Oppbevaringstemperatur
(RO) - Limitele de temperatură la stocare
(BG) - Температурни граници на съхранение

(GB) - Consult Instruction for use
(FR) - Consulter le mode d'emploi
(ES) - Consulte las instrucciones de uso
(IT) - Consultare le istruzioni per uso
(DE) - Siehe Gebrauchsanweisung
(PT) - Consulte o folheto informativo
(SE) - Se bruksanvisningen
(DK) - Se instruktion før brug
(GR) - Συμβουλευθειτε τις οδηγιες χρησης
(PL) - Sprawdź instrukcję
(LT) - Ieškokite informacijos vartojimo instrukcijoje
(HU) - Olvassa el a használati utasítást
(EE) - Kasutamisel vaata instruktsiooni
(SK) - Katalógové číslo
(CZ) - Viz návod k použití
(NO) - Se bruksanvisninger
(RO) - Consultati prospectul de utilizare
(BG) - Виж инструкцията за употреба

Bio-Rad
3, bd Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette - France
Tél.: +33 1 47 95 60 00
Fax.: +33 1 47 41 91 33

CE 0459

01/2009
Code: 883560